

ACCION TOXICA DE FILTRADOS DE CULTIVOS DE « ALTERNARIA TENUIS »

SOBRE OLIVO Y TOMATE ¹

Por ABEL A. SARASOLA ² y NOEMI ABIUSSO ³

Muchos representantes del género *Alternaria* son considerados como simples saprófitos o parásitos débiles que aprovechan estados decadentes de las plantas para invadir sus tejidos y contribuir a la producción de enfermedades. Recientemente se ha comprobado que algunos de ellos son capaces de producir substancias que resultan tóxicas para el huésped, abriéndose así un nuevo camino para dilucidar el verdadero papel que juegan como agentes patógenos.

En este sentido son muy interesantes los trabajos de Brian et al. (1949; 1951 y 1952), Brian y Wright (1950), Gäumann (1951), Gäumann, Kern y Sauthoff (1952), Gäumann et al. (1952), Pound y Stahmann (1951) y Wright (1951) que se ocupan de la producción de una toxina, causante de marchitamiento, en filtrados de cultivos de *A. solani* (Ell. et Mart.) Jones et Grout o *A. porri* (Ell.) Saw. que Brian et al. (1949) aislaron y llamaron ácido alternárico. Por su parte Darpoux et al. (1950) aislaron de *A. solani* un segundo antibiótico que han denominado alternarina.

¹ Recibido para su publicación el 5 de agosto de 1953.

La presente contribución fué aprobada por el Primer Congreso Argentino de la Industria Olivícola realizado en la ciudad de Córdoba entre el 1º y 6 de junio del corriente año, 1953.

² Ingeniero Agrónomo. Profesor Adjunto Asistente de Fitopatología en la Facultad de Agronomía y Jefe del Departamento de Defensa del Agro del Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires, Ciudad Eva Perón.

³ Doctora en química. Técnica del Insectario Regional de la ciudad Eva Perón, dependiente del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación.

Recientemente Torikata y Komai (1952) comprobaron la producción de lacasa en filtrados de cultivos de *A. kikuchiana* Tanaka y de otras especies de *Alternaria*.

Sarasola (1949) dió a conocer una nueva enfermedad del olivo, que demostró era producida por *A. tenuis* Nees, quedando algunas dudas acerca del mecanismo de acción de este parásito, por cuanto se observaban ramitas muertas libres, en casi toda su longitud, del citado microorganismo. Estos motivos y algunos aspectos de su sintomatología le indujeron a pensar que podría tratarse de una enfermedad causada por toxinas producidas por el mencionado hongo.

A los efectos de verificar esta hipótesis fueron realizados todos los ensayos que se detallan en el presente trabajo.

Se efectuaron cultivos de *A. tenuis* en los medios líquidos de Czapek ¹ y Feldman ² que fueron incubados a temperaturas de 22 y 26° C durante tres o cuatro semanas para tratar de determinar presencia de toxinas en los filtrados. Con tales fines se emplearon estacas cortadas bajo agua, de plántulas de tomate de 3 semanas que fueron colocadas en tubitos conteniendo 1 ml del líquido de cultivo y, en el caso de los testigos, en igual cantidad del medio incubado en las mismas condiciones. Solamente se marchitaron las estacas colocadas en el líquido de Czapek (lám. I a, b).

Con estos resultados preliminares se continuó trabajando con este medio, ensayando cepas del citado hongo de distinta procedencia, comprobando que había algunas variaciones en cuanto a la capacidad de producir marchitamiento en tomate.

En consecuencia fué seleccionada la cepa que se consideraba más conveniente, la cual fué aislada de hojas de olivo necrosadas en su extremidad.

Para determinar si aquel mismo fenómeno era producido también en olivo, se realizaron inyecciones en ramitas jóvenes atravesándolas a una distancia entre 5 y 10 cm a partir de la extremidad, con una mecha constituida por un hilo de algodón previamente humedecido y sumergido por su parte inferior en una ampolla conteniendo una cantidad medida de filtrado. En la misma forma se procedió con los testigos empleando siempre el medio de Czapek (lám. I c, d, e, f).

¹ Se empleó la fórmula corriente.

² Preparado, con pocas diferencias, de acuerdo con las instrucciones dadas por FELMAN, A. W; N. E. CAROSELLI y F. L. HOWARD. 1950. *Physiology of toxin production by «Ceratostomella ulmi»*, en *Phytopathology* 40: 341-354.

A. A. SARASOLA Y N. ABIUSSO, *Filtrados de cultivos de « Alternaria tenuis »*

LÁMINA I



a), testigo; b), estaca de tomate marchita después de 24 horas de colocada en filtrados de cultivo de *Alternaria tenuis*; c) y d), ramitas de olivo testigos inyectadas con medio líquido de Czapek esterilizado; e) y f), ramitas inyectadas con filtrados de cultivos de *A. tenuis*. Obsérvese el marchitamiento producido en las dos tratadas.

Este ensayo se repitió varias veces en la Facultad de Agronomía en distintas épocas del año obteniéndose el marchitamiento de las ramitas de olivo inyectadas con los filtrados de *A. tenuis*, en distintos porcentajes según el ensayo. Pudieron observarse así, a partir del segundo o tercer día, distintos síntomas característicos de la enfermedad tales como necrosis de la extremidad de las hojas, necrosis de los pecíolos y zonas adyacentes del limbo, manchas necróticas redondeadas, acartuchamiento, ulterior muerte y caída de hojas, marchitamiento total de las ramitas tratadas y consiguiente arrugamiento de los frutos. Los testigos siempre permanecieron sanos.

Con el fin de repetir estas experiencias en la zona de Coronel Dorrego, donde la enfermedad ha adquirido más importancia, se realizaron en enero del corriente año, 1953, en el Vivero Cristóbal M. Hicken, 104 tratamientos sobre plantas de las variedades *Ascolano*, y *Arauco* o *Araucana* ¹ utilizando filtrados sometidos previamente a esterilización en autoclave a 120°C durante 20 minutos. Sus propiedades tóxicas fueron termo estables como pudo comprobárselo experimentando con estacas de tomate. Es de hacer notar que al ensayar estos filtrados en las plantas de olivo fueron empleadas cantidades que variaron entre 1 y 10 cc según el diámetro de las ramitas inyectadas que, a su vez, fluctuó entre 2 y 10,5 mm. Al cabo de 25 días fueron examinados los ensayos comprobándose que había signos evidentes de enfermedad en casi todas las ramitas tratadas, consistentes en marchitamiento total o en hundimientos en forma de canchales en la zona de contacto entre la mecha y la ramita. Resumiendo, se obtuvieron los siguientes resultados :

Efectos producidos	Inyecciones con filtrado de <i>A. tenuis</i>		Testigos	
	Arauco	Ascolano	Arauco	Ascolano
% de ramitas muertas.....	8,6	47,6	0	0
% de canchales en la zona de contacto entre la mecha y la ramita.....	91,2	52,1	0	0

¹ Agradezco por haber colaborado en este ensayo a la señora María A. R. de Sarasola y al Director del citado Vivero, Agrónomo Miguel de la Arena.

Todos los elementos de juicio aquí expuestos ponen en evidencia que el hongo *A. tenuis* es capaz de generar principios tóxicos que pueden ocasionar marchitamiento en tomate y reproducir los principales síntomas característicos de la enfermedad llamada alternariosis del olivo.

Summary. — In this work, antecedents are cited on production of toxic principles by species of the genus *Alternaria* and are studied the possibilities that culture filtrates of *A. tenuis*, isolated from olive, might be responsible of wilting in tomato cuttings and olive twigs.

With culture filtrates of this parasite in liquid medium of Czapek it was produced wilting of tomato cuttings and were induced, by injections to the twigs, the main symptoms of the olive disease called «alternariosis» in Argentina. The same results were obtained with filtrates sterilized for 20 minutes at 120° C. Czapek's liquid medium was used for the controls.

BIBLIOGRAFIA

- BRIAN, P. W. ; P. J. CURTIS ; H. G. HEMMING ; C. H. UNWIN and JOYCE M. WRIGHT, 1949. *Alternaric acid, a biologically active metabolic product of the fungus Alternaria solani* — *Nature* 164 : 534-535.
- BRIAN, P. W. and JOYCE M. WRIGHT, 1950. *An antifungal and phytotoxic metabolic product of the plant-pathogenic fungus Alternaria solani*. Abstract VII. Internat. Bot. Congress Stockholm, mimeographed copy. (Citado por Gäumann, Kern y Sauthoff).
- BRIAN, P. W. ; P. J. CURTIS ; H. G. HEMMING ; E. G. JEFFERYS ; C. H. UNWIN & JOYCE M. WRIGHT, 1951. *Alternaric acid ; a biologically active metabolic product of Alternaria solani (Ell. & Mart.) Jones & Groul ; its production, isolation and antifungal properties.* — *J. gen. Microbiol.*, 5, 4 : 619-632.
- BRIAN, P. W. ; G. W. ELSON ; H. G. HEMMING and JOYCE M. WRIGHT, 1952. *The phytotoxic properties of alternaric acid in relation to the etiology of plant diseases caused by Alternaria solani (Ell. and Mart.) Jones and Groul.* — *Ann. Appl. Biol.*, G. B., 39 (3) : 308-21.
- DARPOUX, H. ; A. FAIVRE-AMIOT & L. ROUX, 1950. *Sur un nouvel antibiotique, l'alternarine, et sur quelques autres substances extraites de cultures d'une souche d'Alternaria solani.* — *C. R. Acad. Sci., Paris*, 230 : 993-995.
- GÄUMANN, E. VON, 1951. *Neuere Erfahrungen mit Welketoxinen.* — *Experientia*, vol. VII (12) : 441-447.
- GÄUMANN, E. VON ; H. KERN und W. SAUTHOFF, 1952. *Untersuchungen über zwei Welketoxine.* — *Phytopath. Zeitschrift* 18 (4) : 404-415.
- GÄUMANN, E. VON ; ST. NAEF-ROTH ; P. REUSSER und A. AMMANN, 1952. *Über den Einfluss einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen.* — *Phytopath. Zeitschrift* 19 (2) : 160-220.

- POUND, G. S. and M. A. STAHMANN, 1951. *The production of a toxic material by Alternaria solani and its relation to the early blight disease of tomato.* — *Phytopathology* 41 (12): 1104-1114.
- SARASOLA, A. A., 1949. *Alternaria tenuis* Nees como agente etiológico de una nueva enfermedad del olivo. — *Lilloa* 21: 7-24.
- TORIKATA, H. & Y. KOMAI, 1952. *Studies on the resistance of Japanese Pear to the black spot disease fungus (Alternaria kikuchiana Tanaka). III. On the polyphenol oxidase in the fungus-free filtrate of culture media.* — *Ann. phytopath. Soc. Japan*, 16: 63-68. (Resumen R. A. M. 32: 134).
- WRIGHT, JOYCE M., 1951. *Phytotoxic effects of some antibiotics.* — *Ann. Bot., N. S.* 15: 493-499.